

**CONGEN**

# **SureFood® ALLERGEN**

## **Кедровый орех**

Артикул №S3624  
100 гхп

Руководство пользователя



январь 2022

Пожалуйста, обращайтесь по вопросам технической поддержки и дополнительной информации к официальным дистрибьюторам на территории Вашей страны:

**Официальный дистрибьютор  
в России:**

**ООО "НеоТест"**

ул. Растопчина, 1Г, г. Владимир

+7 499 649 02 01

info@neo-test.ru

[www.neo-test.ru](http://www.neo-test.ru)

**Техническая поддержка**

support@neo-test.ru

+7 499 704 05 50



**Официальный дистрибьютор  
в Беларуси:**

**ОДО "КомПродСервис"**

ул. Филимонова, 25Г, г. Минск

+375 17 336 50 54

info@komprod.com

[www.komprod.com](http://www.komprod.com)

**Техническая поддержка**

support@komprod.com

+375 17 336 50 54



## 1 Общая информация

### 1.1 Описание

Набор SureFood® ALLERGEN Pine Nut представляет собой real-time ПЦР набор, предназначенный для качественного определения ДНК кедрового ореха (*Pinus spp.*) в пище.

Каждая реакция содержит внутренний контроль амплификации. Если ДНК содержит вещества, ингибирующие ПЦР, это повлияет на сигнал внутреннего контроля амплификации, амплификация будет подавлена. Примерами веществ, ингибирующих ПЦР, являются спирты (например, этанол, изопропанол), поверхностно-активные вещества (например, СТАВ, SDS, Triton X100) и соли (например, хлорид натрия). Также специи, травы, водоросли, какао и другие образцы матриц могут оказывать ингибирующее действие на ПЦР.

Анализ ПЦР в реальном времени может быть выполнен с помощью широко используемых приборов для ПЦР в реальном времени, оборудованных для обнаружения двух флуоресцентных красителей на каналах FAM и VIC/HEX одновременно. Техническая валидация набора была проведена на Agilent AriaDx, Bio-Rad CFX96 Dx, R-Biopharm RIDA®CYCLER, Roche LightCycler® 480 II и Qiagen Rotor-Gene Q.

### 1.2 Предел обнаружения

ПЦР SureFood® ALLERGEN кедровый орех имеет предел обнаружения  $\leq 1$  мг / кг при использовании SureFood® PREP Advanced, протокол 1.

Предел обнаружения полного метода (выделение ДНК и ПЦР в реальном времени) зависит от матрицы, степени обработки, подготовки и содержания ДНК.

ПЦР-системы SureFood® очень чувствительны, поэтому даже небольшое количество целевой ДНК достаточно для успешного анализа. Концентрация общей ДНК в образце не позволяет сделать вывод о количестве и качестве целевой ДНК.

### 1.3 Выделение ДНК

Для выделения ДНК рекомендуется использовать SureFood® PREP Advanced (арт. S1053), протокол 1 или SureFast® Mag PREP Food (арт. F1060).

**1.4 Состав набора**

Код реагента	Реагент	Количество	Цвет крышки
1	Реакционная смесь	2 x 1100 мкл	Желтый
2	Тақ Полимераза	1 x 80 мкл	Темно-Красный
3	Позитивный контроль	1 x 200 мкл	Светло голубой

Храните все реагенты при -20 ° С, в защищенном от света месте. Полимеразу Тақ можно хранить при температуре от +2 до + 8 ° С для многократного использования в один и тот же день.

Примечание. Полимераза Тақ может быть в замороженном или незамороженном состоянии. Это не влияет на качество Тақ-полимеразы или производительность ПЦР в реальном времени.

**1.5 Необходимое оборудование и материалы:**

- прибор для ПЦР в реальном времени (с двумя каналами детекции 510 нм и 580 нм);
- набор выделения ДНК SureFood® PREP Advanced (арт. S1053) или SureFast® Mag PREP Food (арт. F1060);
- расходные материалы для ПЦР в реальном времени (планшеты, пробирки, капилляры, фольга, крышки), пипетки с наконечниками с фильтрами;
- одноразовые перчатки без порошка;
- вихревой смеситель;
- микроцентрифуга с ротором для реакционных пробирок.

**1.6 Установочные параметры термоциклера**

	Blockcycler / R-Biopharm RIDA®CYCLER	Rotorcycler / LTF MyGo Pro
Начальная денатурация (HOLD)	5 мин, 95°C,	1 мин, 95°C
Циклы	45	45
Денатурация	15 с, 95°C	10 с, 95°C
Отжиг/Элонгация (CYCLE)	30 с, 60°C	15 с, 60°C
Скорость температурного перехода/ Ramp Rate	Максимум	Максимум

1.7 Настройка канала обнаружения

Прибор	Определение	Детектирующий канал	Тушитель	Примечания
Agilent AriaMx/Dx	Кедровый орех	FAM	+	
	IAC	HEX	+	
Bio-Rad CFX96/Dx	Кедровый орех	FAM	+	
	IAC	VIC/HEX	+	
R- Biopharm RIDA®CYCLER	Кедровый орех	green	+	
	IAC	yellow	+	
Qiagen Rotor-Gene Q	Кедровый орех	green	+	Пожалуйста, используйте только 0,1 мл реакционные пробирки. Настройки усиления должны быть установлены на 5 (заводское значение по умолчанию) для всех каналов.
	IAC	yellow	+	
Roche LightCycler® 480 II	Кедровый орех	465-510	+	
	IAC	533-580	+	

2 Качественный анализ

2.1 Протокол

2.1.1 Приготовление мастер-микса

Рассчитайте общее количество необходимых реакций (образцы и контрольные реакции) для конкретного ПЦР-анализа, а также для контроля ингибирования.

Рекомендуемые контрольные реакции для ПЦР-анализа: отрицательный контроль, контроль выделения, положительный контроль. Реакционная смесь содержит внутренний контроль амплификации (IAC) для каждой реакции.

Реакции, необходимые для качественного обнаружения сельдерея:

3 реакции для контролей (1x контроль без матрицы, 1x контроль выделения, 1x положительный контроль)

Для каждого образца: минимум 1 реакция на каждый образец ДНК.

Также рекомендуется приготовить мастер-микс с 10% избытком объема, чтобы компенсировать потерю реагента. Дайте реагентам оттаять, перемешайте и центрифугируйте перед открытием и использованием.

Пример расчета и подготовки 10 реакций:

Компоненты для мастер-микса	Объем на 1 реакцию	10 реакций (с 10% избытком)
Реакционная смесь	19.3 мкл	212.3 мкл
Тақ Полимераза	0.7 мкл	7.7 мкл
Общий объем	20 мкл	220 мкл

Хорошо перемешайте мастер-микс и центрифугируйте до использования.

### 2.1.2 Приготовление смеси для ПЦР в реальном времени

- Внесите пипеткой 20 мкл мастер-микса в соответствующие пробирки / лунки.
- Закройте отрицательный контроль (отрицательный контроль готов для ПЦР без добавления).
- Внесите пипеткой 5 мкл образца ДНК в указанные пробирки / лунки и закройте их.
- Внесите пипеткой 5 мкл положительного контроля в указанные пробирки / лунки и закройте их.
- Центрифугируйте все пробирки / планшеты на низкой скорости.
- Поместите пробирки / планшеты в прибор для ПЦР в реальном времени и запустите цикл в соответствии с настройками.

### 2.2 Интерпретация результатов

Оценка должна выполняться в соответствии с программой анализа, рекомендованной производителем прибора для ПЦР в реальном времени.

Контрольные реакции должны давать правильные результаты.

ДНК кедрового ореха обнаруживается в FAM-канале. В канале VIC/HEX определяется контроль амплификации.

Образец считается положительным, если ДНК образца амплифицируется в системе обнаружения. Высокие концентрации ампликонов может привести к слабому или отсутствующему сигналу внутреннего контроля амплификации (ВКА).

Значение Ср для внутреннего контроля амплификации (IAC) не требуется для получения положительного результата для положительного контроля.

Образец считается отрицательным, если ДНК образца не амплифицируется в системе детекции и, если, внутренний контроль (VIC/HEX-канал) образца положительный со сдвигом значения  $C_p \leq 2$  по сравнению с отрицательным контролем.

Если ДНК образца в VIC/HEX-канале не показывает амплификации или сдвиг значения  $C_p > 2$  по сравнению с отрицательным контролем, то образец содержит вещества, ингибирующие ПЦР. Значительное снижение сигнала флуоресценции также может свидетельствовать о наличии веществ, ингибирующих ПЦР. При таких обстоятельствах выделение ДНК и очистка образца должны быть улучшены. В качестве альтернативы можно разбавить ДНК (рекомендация 1:2 в воде для ПЦР) и снова проанализировать на предмет ингибирования. Обратите внимание, что фактор разбавления также влияет на предел обнаружения специфического ПЦР-анализа кедрового ореха.

Для оценки образца можно использовать самостоятельно отобранный контрольный образец с известной концентрацией. Этот эталонный образец может использоваться вне рамок руководства CONGEN по качеству и оценке.

**В целом:**

Образцы с отрицательным результатом все еще могут содержать загрязнение аллергеном ниже предела обнаружения или они могут содержать другие компоненты аллергена, например, белки или липиды.

**4 Дополнительная информация**

**4.1 Информация о продукте**

Шаблон Microsoft Excel для расчета и подробная информация о настройке устройств для проведения ПЦР в реальном времени: [www.congen.de/en/company/downloads](http://www.congen.de/en/company/downloads))

**4.2 Техническая поддержка**

Для получения дополнительных вопросов, пожалуйста, свяжитесь с вашим дистрибьютором или отправьте электронное письмо по адресу [sales@r-biopharm.de](mailto:sales@r-biopharm.de).

